

Induksi Kalus Cabai (*Capsicum annuum* L.) secara in vitro

(Induction of Hot Pepper Calli Throught In Vitro Culture)

MUSWITA¹⁾

¹⁾ Program Studi Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP Universitas Jambi,
Jl. Raya Jambi-Muara Bulian, Mendalo Darat KM. 15 Jambi 36361

ABSTRACT. The study aims to determine the effect of several concentrations of auxin and cytokinin in inducing callus from anther chili in vitro. The study was compiled using completely randomized design with 2 factors and 5 replications. The first factor is the chili pepper cultivars: Cemeti, Laris, Tombak, and LV 2319. The second factor is the concentration of auxin and cytokinin: without 2,4 D and kinetin, 0.01 mg / l 2,4 D + 0.01 mg / l kinetin, 0.1 mg / l 2,4 D + 0.1 mg / l kinetin, 0.5 mg / l 2,4 D + 0.5 mg / l kinetin, 2 mg / l 2,4 D + 2 mg / l kinetin, 2 mg / l 2,4 D + 0.2 mg / l kinetin; 0.2 mg / l 2,4 D + 2 mg / l kinetin. The observed parameters include percentage of callus and plantlets formation. The results showed that 2.4 D and kinetin are able to induce callus and plantlets. Effect of 2.4 D and kinetin was dependent on the concentration given and the pepper cultivars. Tombak cultivars are more responsive than the other cultivars in callus formation. Plantlets obtained from Laris cultivars.
Beri peringkat terjemahan

Keywords: induction calli, hot pepper, in vitro

ABSTRAK. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa konsentrasi auksin dan sitokinin dalam menginduksi kalus dari anter cabai secara in vitro. Penelitian disusun menggunakan rancangan acak lengkap dengan dengan 2 faktorial dan 5 ulangan. Faktor pertama adalah kultivar cabai yaitu cabai keriting cemeti, cabai keriting laris, cabai besar tombak dan cabai besar LV 2319. Faktor ke dua adalah konsentrasi auksin dan sitokinin yaitu tanpa 2,4 D dan kinetin, 0,01 mg/l 2,4 D + 0,01 mg/l kinetin; 0,1 mg/l 2,4 D + 0,1 mg/l kinetin; 0,5 mg/l 2,4 D + 0.5 mg/l kinetin; 2 mg/l 2,4 D + 2 mg/l kinetin; 2 mg/l 2,4 D + 0,2 mg/l kinetin; 0,2 mg/l 2,4 D + 2 mg/l kinetin. Parameter yang diamati adalah persentase terbentuknya kalus dan plantlet. Hasil penelitian menunjukkan 2,4 D dan kinetin pada media dapat menginduksi kalus dan planlet. Pengaruh 2.4 D dan kinetin ini tergantung kepada konsentrasi yang diberikan dan kultivar cabai yang digunakan. Kultivar Tombak lebih responsif dibandingkan dengan kultivar lainnya dalam pembentukan kalus. Planlet didapatkan dari kultivar laris.

Kata kunci: induksi kalus, cabai, in vitro.

PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan komoditi sayuran terpenting kedua setelah tomat, karena dikonsumsi hampir seluruh masyarakat Indonesia. Dibandingkan dengan jenis sayuran lain cabai mempunyai nilai ekonomi yang cukup baik. Buahnya memiliki aroma, rasa pedas dan warna yang spesifik sehingga banyak digunakan sebagai rempah atau bumbu. Seiring dengan pertambahan jumlah penduduk Indonesia dan berkembangnya industri makan yang menggunakan bahan baku cabai maka kebutuhan cabai terus meningkat. Rata rata produksi cabai nasional sebesar 1,63 ton/ha masih jauh di bawah rata-rata produksi dunia sebesar 9,5 ton/ha sehingga tidak mampu

memenuhi kebutuhan nasional (Dirjen Produksi Holtikultura dan Aneka Tanaman, 2000).

Produksi cabai dapat ditingkatkan melalui program perluasan pertanaman dan intensifikasi budidaya. Kedua program ini sangat membutuhkan benih yang berkualitas baik secara genetik maupun daya tumbuhnya. Usaha yang dapat dilakukan diantaranya dengan menyediakan benih hibrida. Benih hibrida dapat diperoleh melalui tanaman homozigot atau galur murni, melalui penggandaan jumlah kromosom tanaman haploid. Metode ini telah terbukti pada Solanaceae dan Gramineae yang dapat mereduksi waktu dan menghasilkan tanaman dalam jumlah besar dibandingkan dengan menggunakan metode konvensional (Reinert dan

bajaj, 1977; Dunwell, 1985; Fehr, 1987; Szarejko dkk, 1991).

Tanaman haploid adalah tanaman yang mempunyai jumlah kromosom yang sama dengan kromosom yang dimiliki oleh sel gamet (Reinert dan Bajaj, 1977). Tanaman haploid dapat diperoleh dengan berbagai cara diantaranya melalui kultur anter. Walaupun metode ini sudah dilakukan lebih dari 20 tahun yang lalu, tetapi rata-rata produksi tanaman haploid masih sangat rendah (Wu dkk. 1973; George dan Narayanaswamy, 1973). Secara alami cabai haploid dapat dihasilkan dari kecambah kembar yang berasal dari satu biji, namun hal ini jarang terjadi (Greenleaf, 1986).

Keberhasilan kultur anter dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya fase perkembangan serbuk sari, komposisi media dan kondisi kultur (Hu dan Zeng, 1984), Sibi dkk. (1979) dan Dumas de Vault dkk. (1981). Dengan memberikan perlakuan suhu 4⁰ C selama 48 jam dan membedakan antara media inisiasi dan regenerasi dapat meningkatkan keberhasilan metode ini. Berdasarkan uraian diatas dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh 2,4 D dan kinetin dalam menginduksi kalus dari anter cabai secara in vitro.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang dibutuhkan adalah cabai besar kultivar Tombak, LV 2319, cabai keriting kultivar Cemati, Laris, medium Dumas de Vault dkk. (1981), 2,4 D, kinetin, aquades, kloroks, tween 20, alkohol, etanol., asam asetat, spiritus, NaOH dan HCl.

Alat yang digunakan adalah petri dish, botol kultur, beker glas, gelas ukur, pipet, otoklaf, laminar airflow, pH meter, timbangan analisis, hot plate, magnetic stirrer, pinset, skapel, lampu spiritus dan kulkas.

Prosedur kerja

1. Penentuan ciri morfologi kuncup bunga fase berinti tunggal

Kuncup bunga cabai pada berbagai tahapan perkembangan kuncup bunga diambil, selanjutnya difiksasi pada larutan etanol: asam asetat (3:1) selama 24 jam pada suhu kamar,

kemudian dibilas dan disimpan pada etanol 70%. Kuncup yang digunakan sebagai eksplan diberi pra-perlakuan suhu dingin selama 48 jam, kemudian kuncup tersebut disterilisasi, diseksi dan isolasi anter secara aseptik.

2. Penanaman anter pada media

Anter ditanamkan pada media inisiasi yang mengandung zat pengatur tumbuh dengan berbagai kombinasi (0 mg/L 2,4 D dan 0 mg/l Kinetin, 0,01 mg/l 2,4 D dan 0,01 mg/l Kinetin, 0,1 mg/l 2,4D dan 0,1 mg/l Kinetin, 0,5 mg/l 2,4D dan 0,5 mg/l Kinetin, 2 mg/l 2,4D dan 2 mg/l Kinetin, 2 mg/l 2,4 D dan 0,2 mg/l Kinetin dan 0,2 mg/l 2,4D dan 2 mg/l Kinetin. Selanjutnya anter yang telah ditanam pada petri diinkubasi dalam gelap selama 8 hari lalu dipindahkan ke ruang kultur. Pengamatan dilakukan setiap minggu selama 16 minggu terhadap persentase pembentukan kalus dan persentase pembentukan plantlet.

Rancangan percobaan

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 2 faktor yaitu kultivar yang terdiri dari 4 taraf dan konsentrasi 2,4 D dan Kinetin yang terdiri dari 7 taraf sehingga diperoleh 28 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan terdiri dari 3 cawan petri yang berisi 4-6 anter tiap cawan dan diulang 5 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil seperti yang tertera pada Tabel 1. Kalus yang diinduksi melalui kultur anter terjadi tidak dalam waktu yang bersamaan yang dimulai dari minggu kedua hingga minggu ke 11. Lamanya waktu yang dibutuhkan untuk menginduksi kalus ini diduga karena pada media adalah media padat, sehingga penetrasi media ke dalam anter untuk pembelahan sel-sel mikrospora berlangsung cukup lama.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa kultivar 2,4 D dan kinetin dan interaksi keduanya berpengaruh terhadap pembentukan kalus. Kalus akan terbentuk apabila media ditambahkan 2,4 D dan kinetin pada konsentrasi tertentu. Persentase pembentukan kalus tertinggi didapatkan pada pada kultivar Tombak pada pemberian 2 mg/l 2,4 D dan 2 mg/l kinetin yaitu sebesar 17,5%. Kalus yang dihasilkan berwarna putih kekuningan dan bertekstur remah. Perlakuan yang sama pada LV 2319 juga

memberikan pembentukan kalus tertinggi yaitu 5,9 % dan kalus yang dihasilkan juga bewarna putih kekuningan yang bertekstur remah tetapi ada juga kalus yang bewarna kecoklatan dan bertekstur kompak. Berbeda dengan kultivar Tombak dan LV2319 pada kultivar Cemeti persentase pembentukan kalus tertinggi didapatkan pada perlakuan 0,2 mg/l 2,4D dan 2 mg/l kinetin sebesar 12,1 % dan kalus yang

dihasilkan bewarna putih kekuningan dan bertekstur remah. Sedangkan untuk kultivar Laris pembentukan kalus tertinggi di dapatkan pada perlakuan 0,5 mg/l 2,4D dan 0,5 mg/l kinetin sebesar 4,6 % dan kalus yang dihasilkan bewarna putih kekuningan dan teksturnya remah. Dari keempat kultivar yang digunakan terlihat bahwa kultivar Tombak lebih responsif dalam pembentukan kalus.

Tabel 1. Pengaruh beberapa taraf auksin dan sitokinin terhadap Persentase inisiasi kalus pada Beberapa kultivar Cabai 16 Minggu Setelah Tanam

Perlakuan	Persentase inisiasi kalus pada kultivar			
	Cemeti	Laris	Tombak	LV 2319
0,0 mg/l 2,4 D dan 0,0 mg/l kinetin	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a
0,01 mg/l 2,4 D dan 0,01 mg/l kinetin	0,0a	0,0a	0,0a	0,0a
0,1 mg/l 2,4D dan 0,1 mg/l kinetin	0,0a	0,0a	13,2de	0,0a
0,5 mg/l 2,4 D dan 0,5 mg/l kinetin	3,3,abc	4,6abcd	8,5bcde	2,9abc
2 mg/l 2,4D dan 2 mg/l kinetin	9,1bcde	1,5ab	17,5e	5,9abcd
2 mg/l 2,4 D dan 0,2 mg/l kinetin	1,6ab	0,0a	0,0a	0,0a
0,2 mg/l 2,4 D dan 2 mg/l kinetin	12,1cde	0,0a	12,3cde	3,1abc

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menyatakan tidak berbeda nyata pada uji Tukey 5% Uji beda menggunakan data hasil transformasi.

Pada semua kultivar kalus akan terbentuk apabila ditambahkan 2,4 D dan kinetin masing dengan konsentrasi 0,5 dan 2 mg/l. Kalus juga dihasilkan pada penambahan 0,2 mg/l 2,4 D dan 2 mg/l kinetin kecuali pada kultivar Cemeti. Penambahan 0,01 mg/l 2,4 D dan kinetin tidak dapat menghasilkan kalus pada semua kultivar dan pemberian 0,1 mg/l 2,4 D dan kinetin menghasilkan kalus hanya pada kultivar Tombak. Hal ini diduga dengan konsentrasi tersebut belum terjadi keseimbangan antara zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dengan zat pengatur tumbuh endogen untuk pembentukan kalus.

Anter dari kultivar laris paling sulit membentuk kalus. Kalus terbentuk bila ditambahkan 2,4 D dan kinetin dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan 2 mg/l dengan persentase berturut-turut sebesar 4,6% dan 1,5%/. Pemberian 2,4 D dan kinetin tidak memberi pengaruh yang berarti dalam pembentukan kalus dibandingkan dengan kultivar lainnya. Ini menunjukkan bahwa faktor genetis sangat berperan dalam pembentukan kalus.. Hal ini mendukung pendapat Rackoczyl dkk (1997) yang menyatakan bahwa frekuensi pembentukan kalus pada kultur anter sangat tergantung pada genotip yang digunakan.

Tabel 2. Pengaruh beberapa konsentrasi auksin dan sitokinin terhadap Persentase Pembentukan Plantlet pada Beberapa Kultivar Cabai 16 Minggu Setelah Tanam

Perlakuan	Persentase pembentukan plantlet pada kultivar			
	Cemeti	Laris	Tombak	LV 2319
0,0 mg/l 2,4 D dan 0,0 mg/l kinetin	0,0	1,5	0,0	0,0
0,01 mg/l 2,4 D dan 0,01 mg/l kinetin	0,0	0,0	0,0	0,0
0,1 mg/l 2,4D dan 0,1 mg/l kinetin	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5 mg/l 2,4 D dan 0,5 mg/l kinetin	0,0	0,0	0,0	0,0
2 mg/l 2,4D dan 2 mg/l kinetin	0,0	0,0	0,0	0,0
2 mg/l 2,4 D dan 0,2 mg/l kinetin	0,0	0,0	0,0	0,0
0,2 2,4 D dan 2 kinetin	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabel 2 menunjukkan bahwa planlet hanya di hasilkan pada kultivar Laris pada media tanpa penambahan 2,4 D dan kinetin (Gambar2). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa keberhasilan androgenesis tergantung pada genotipe tanaman (Dumas de Vaulx dkk, 1981; Kristiansen dan Anderson, 1993; Maheswary dan Mak, 1993; Qin dan Rotino, 1993; Ltifi dan Wenzel, 1994; Dolcet- sanjuan dkk, 1997).

Dari hasil ini terlihat bahwa planlet yang dihasilkan rendah. Diduga dengan konsentrasi dan pemilihan jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan belum mampu untuk pembentukan planlet. Kondisi kultur yang mampu merangsang perkembangan kalus menjadi tanaman masih harus dicari. Untuk mendapatkan tanaman melalui kultur anter harus melalui embriogenesis, seperti yang telah berhasil dilakukan oleh Dumas de Vaulx dkk. (1981); Maheswary dan Mak (1993); Dolcet-Sanjuan (1997).

KESIMPULAN

Penambahan 2,4 D dan kinetin mampu menginduksi terbentuknya kalus pada kultur anter cabai, dan kalus terbanyak didapatkan pada kultivar Tombak sebesar 17.5 % dengan penambahan 2 mg/l 2,4 D dan 2 mg/l kinetin. Pada kultivar Laris planlet yang diduga haploid dapat dihasilkan secara langsung tanpa penambahan zat pengatur tumbuh tetapi persentasenya masih sangat rendah yaitu 1,5 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Dirjen Produksi Holtikultura dan Aneka Tanaman.** 2000. Informasi holtikultura dan aneka tanaman Indonesia. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Dolcet- Sanjua R, Claveria E, Huerta A.** 1997. Androgenesis in *Capsicum annuum* L. Effect of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. *J Amer Soc Hort Sci* 122:468-475.
- Dumas de Vaulx R, Chambonnet D, Pochard E.** 1981. Culture in vitro d'anteres de pigmen (*Capsicum annuum* L): amelioration de taux d'obtention de plantes chez differents genotypes par des traitements a +35°C. *Agronomie* 1:859-864.
- Dunwell JM.** 1985. Haploid cell culture, p 21-36. Dalam R.A Dixon (ed). *Plant cell culture, a practical approach*. IRL Press. London.
- Fehr WR.** 1987. *Principles of Cultivar development*. Macmillan Pub co.. New York.
- Greenleaf WH.** 1986. Pepper breeding. Dalam M.J. Basset (ed). *Beeding begetable crop*. Avi Publishing Co. Conneticut.
- George L dan Narayanaswamy.** 1973. Haploid capsicum through experimental androgenesis. *Protoplasma* 78:467-470.
- Hu H, Zeng J.** 1984. Development of new varietas via antere culture. dalam Mirato PV, Evans DA, Sharp WR, Yamada Y (editor), *Handbook of Plant cell culture*. Volume 3. Macmillan Publishing Co. New york.
- Kristiansen K, Andersen SB.** 1993. Effects of donor plant temperature, photoperiod and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L. *Euphytica* 67:105-106.
- Ltifi A, Wenzel G.** 1994. Anther culture of hot and sweet pepper (*Capsicum annuum* L.): Influence of genotype and plant growth temperature. *Capsicum and Eggplant Newsl* 13: 74-77.
- Maheswary V, Mak C.** 1993. The influence of genotypes and environments on induction of pollen plant for anther culture of *Capsicum annuum* L. as Pac J Mol Biol Biotech 1:43-50.
- Qin X, Rotino GI.** 1993. Anther culture of several sweet and hot pepper genotypes. *Capsicum and Eggplant Newsl* 12: 59-62.
- Reinert J, Bajaj YPS.** 1977. Anther culture:haploid production and its significance. Di dalam Y. Reinert and YPS Bajaj (ed). *Plant cell, Tissue and Organ Culture*. Springer-Verlag. Berlin.

- Rochozil MT, Smith M, Malepzył S.** 1997. The influence genotype and medium on rye (*Secale cereale*) anther culture. *Plant cell, Tissue and Organ culture* 48:15-21.
- Sibi M, Dumas de Vaulx R, Chambonet D.** 1979. Obtention de plantes haploïdes par androgenèse in vitro chez le poivron (*Capsicum annum* L) ann Amélior, plantes 29:583-606. (with summary in English).
- Szarejko I, Maluzynski K, Polok K dan Kilian A.** 1991. Double haploid in the mutation breeding of selected crops vol 2. *Proceeding of an International Symposium: Plant mutation Breeding for crop improvement*. Vol 1. Vienna 18-22 June 1990.
- Wu Y, Wu C, Ci C.** 1973. The induction of the pollen planlets of triticales and capsicum annuum from anther culture. *Scientica Sinica* XVI(1): 147-151.